

## EasySep™ “Do-It-Yourself” 正选试剂盒II

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17698  
#17698RF RoboSep™

正选  
文档号 #1000035721 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠正选, 使用自备的小鼠IgG 1单克隆抗体从单细胞悬液中分离出高纯度的目的细胞。

- 操作简单、快捷
- 无需分离柱

该试剂盒使用自备的小鼠IgG 单克隆抗体靶向任何目的细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记, 并通过EasySep™磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒入弃去, 而目的细胞则保留在试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

### 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ “Do-It-Yourself” 组分A	18090	1 x 0.1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ “Do-It-Yourself” 组分B	18091	1 x 0.1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100 磁珠	50100	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。
用于制备“Do-It-Yourself”抗体混合物的RoboSep™试管	18093	1 管	不适用。	不适用。	不适用。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输, 但应按照上述说明进行储存。

### 其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
分选抗体混合物 (自备的小鼠IgG1单克隆抗体 + 组分A + 组分B)	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	试剂稳定性应通过实验确定。不可超过每个单独组分的有效期。

### 样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见 [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells)。

#### 外周血

通过将全血在密度梯度离心液 (例如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD\* (产品号 #85450/85415) 细胞分选管。如果使用冻存的PBMCs, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为 100 µg/mL的DNase I溶液 (产品号 #07900) 孵育细胞至少 15 分钟, 再进行标记和分选。

使用 40 µm的细胞滤筛 (产品号 #27305) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。制备完成后, 将细胞以  $1 \times 10^8$  细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

\* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用, 其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区, SepMate™仅限于研究用途 (RUO)。

#### 其它样本来源

如果使用其它来源或组织样本, 请确保这些细胞为单细胞并重悬于推荐缓冲液中。不建议使用该试剂盒分选小鼠细胞。

### 推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144), RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104); 或者含 2%胎牛血清 (FBS) 和 1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 使用指南–EasySep™手动实验流程

请参阅第 1 页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表 1 和表

2。表1.EasySep™ “Do-It-Yourself”正选试剂盒 II操作流程

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	将自备的小鼠IgG 1 单克隆抗体（可能需要溶解配置）添加到 1.5 mL聚丙烯试管中。	15 µg 注：最多800 µL	15 µg 注：最多800 µL
2	将组分A加入聚丙烯试管中并充分混合。	100 µL	100 µL
3	将组分B加入聚丙烯试管 混匀并孵育。	100 µL 在37°C孵育 5 小时或过夜	100 µL 在 37°C孵育 5 小时或过夜
4	添加无菌PBS，将聚丙烯试管定容至指定体积。	定容至 1 mL	定容至 1 mL
制备好的分选抗体混合物已经可以使用。		---	---
5	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.1 - 2.5 mL 注：如果起始细胞数量少于 1 x 10 <sup>7</sup> ，请将细胞重悬于 0.1 mL中。对于目的细胞起始含量< 2%的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 2.5 x 10 <sup>7</sup> ，请将细胞重悬于 0.25 mL中。对于目的细胞起始含量< 2%的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL。
	将样本添加到所需的流式管中。	5 mL (12 x 75 mm) 流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 流式管 (如: 产品号 #38008)
6	在样本中添加种属特异性FcR阻断剂（需自备）。	0.5 - 3 µg/mL 样本	0.5 - 3 µg/mL 样本
7	在样本中加入分选抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 15 分钟	室温孵育 15 分钟
8	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
9	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 10 分钟	室温孵育 10 分钟
继续至下一页。		继续至下一页。	继续至下一页。

		EASYSEPT™磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
10	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	定容至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL，定容至 5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 5 分钟*	室温孵育 5 分钟*
11	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管**，倾倒下清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
12	重复以上步骤。	重复两次步骤 10 和 11 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)	重复两次步骤 10 和 11 (总共进行 3 次 5 分钟的分选)
<b>可选的额外细胞分选流程</b> 对于目的细胞起始含量 < 10% 的样本 注：可以提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。		最多再重复三次步骤 10 和 11 (总共进行 4 - 6 次 5 分钟的分选)	最多再重复三次步骤 10 和 11 (总共进行 4 - 6 次 5 分钟的分选)
13	将细胞重悬于所需的培养基中。 请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\* 将每轮分选的磁极吸附时间延长至 10 分钟可能可以提高回收率。

\*\* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3 秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™ “Do-It-Yourself”正选试剂盒 II操作流程

		EASYSEPT™磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	将自备的小鼠IgG 1 单克隆抗体（可能需要溶解配置）添加到 1.5 mL聚丙烯试管中。	15 µg 注：最多 800 µL	15 µg 注：最多 800 µL
2	将组分A加入聚丙烯试管中并充分混合。	100 uL	100 uL
3	将组分B加入聚丙烯试管中。 混匀并孵育。	100 uL 在37°C孵育 5 小时或过夜	100 uL 在37°C孵育5小时或过夜
4	添加无菌PBS，将聚丙烯试管定容至指定体积。	定容至 1 mL	定容至1 mL
制备好的分选抗体混合物已经可以使用。		---	---
5	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.1- 2.5 mL 注：如果起始细胞数量少于 1 x 10 <sup>7</sup> ，请将细胞重悬于 0.1 mL中。对于目的细胞起始含量< 2%的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25- 8 mL 注：如果起始细胞数量少于 1 x 10 <sup>7</sup> ，请将细胞重悬于 0.1 mL中。对于目的细胞起始含量< 2%的样本，将细胞浓度调整为 2 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL。
	将样本添加到所需的试管中。	5mL (12 x 75 mm) 流式管 (如: 产品号 #38007)	14mL (17 x 95 mm) 流式管 (如: 产品号 #38008)
6	在样本中添加种属特异性FcR阻断剂（需自备）。	0.5 - 3 µg/mL 样本	0.5 - 3 µg/mL 样本
7	在样本中加入分选抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 15 分钟	室温孵育 15 分钟
8	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒
9	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 10 分钟	室温孵育 10 分钟
继续至下一页。		继续至下一页。	继续至下一页。

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明 (续)	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
10	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	定容至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 若样本 &lt; 1 mL，定容至 5 mL</li> <li>• 若样本 ≥ 1 mL，定容至 10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 10 分钟	室温孵育 10 分钟
11	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。管。	弃去上清液	弃去上清液
12	重复以上步骤。	重复两次步骤 10 和 11 (总共进行 3 次 10 分钟的分选)	重复两次步骤 10 和 11 (总共进行 3 次 10 分钟的分选)
可选的额外细胞分选流程 针对目的细胞起始占比 < 15% 的样本 注：可以提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。		最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 10 分钟的分选)	最多再重复三次步骤 7 和 8 (总共进行 4 - 6 次 10 分钟的分选)
13	将细胞重悬于所需的培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*\* 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如，对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用一个 2 mL血清移液管 [ 产品号 #38002 ]；对于EasyEights™ 14 mL流式管，使用一个 10 mL血清移液管 [ 产品号 #38004 ])。

## 使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第 1 页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表 3。

表3.RoboSep™ “Do-It-Yourself”正选试剂盒 II 操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	将自备的小鼠IgG1单克隆抗体（可能需要溶解配置）添加到RoboSep™试管中，从而得到“Do-It-Yourself”抗体混合物。	15 µg 注：最多800 µL	
2	将组分A加入RoboSep™试管中并充分混合。	100 µL	
3	将组分B加入RoboSep™试管中。	100 µL	
	混匀并孵育。	在 37°C 孵育 5 小时或过夜	
4	添加无菌PBS至RoboSep™试剂管中，并定容至指定体积。	定容至 1 mL	
制备好的分选抗体混合物已经可以使用。		---	
5	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 8.5 mL 注：对于目的细胞起始含量 < 10%的样本,将细胞浓度调整为 2 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL。	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 流式管 (如: 产品号 #38008)	
6	若需要，可在样本中添加物种特异性FcR阻断剂（需自备）。	0.5 - 3 µg/mL样本	
7	选择实验程序。	任意物种 Do-It-Yourself 正选 17698	
8	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
9	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
10	运行完成后，卸载转盘。取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

## 注意事项和提示

### 纯度评估

使用EasySep™“Do-It-Yourself”正选试剂盒II制备的抗体混合物中，小鼠IgG 1 抗体可能会阻断其它通过流式细胞术评估纯度的荧光偶联抗体。使用未被分选抗体混合物中的抗体克隆阻断的荧光偶联抗体克隆。如果不行，可以使用以下任一方法来评估纯度：

- 如果适用，请使用其它的荧光偶联标志物。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

### 抗体质量

正选的细胞回收率取决于EasySep™“Do-It-Yourself”正选试剂盒II制备的抗体混合物中所使用的小鼠IgG 1 抗体质量。过期或储存不当的抗体可能对目的细胞表面标志物的亲和力较低，从而导致回收率较低。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问[WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE)。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标均为各自所有者所有。Brilliant Violet是Singen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。STEMCELL Technologies Inc.对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。